

PAT-NO: JP356131639A

DOCUMENT-IDENTIFIER: JP 56131639 A

TITLE: PROTEIN-CHITOSAN COMPOSITION

----- KWIC -----

Abstract Text - FPAR (1):

PURPOSE: The titled composition with excellent heat resistance, nonhygroscopic property and mechanical characteristics, nonabsorbable for a living body and useful as an edible casing material for a sausage etc., which is prepared from a fibrous protein, a sol. protein and a chitosan, if necessary, by crosslinking said components.

Abstract Text - FPAR (2):

CONSTITUTION: A fibrous protein/sol. protein/chitosan composition is prepared by bringing (A) a chitosan, (B) a fibrous protein and (C) a sol. protein into contact with each other in an acid region, and removing the acid from the resulting reaction product and, if necessary, crosslinking the product. In view of solubility and processability, a chitosan of N-deacetylation degree 50~100% and viscosity 20~1,000 cp at 20°C [in a 0.5wt% solution (solvent; 1wt% aqueous acetic acid)] is used as the component A. A collagen fiber is used as the composition B and a gelatin etc. as the component C. The complex material is able to be used for an artificial vein, skin, kidney, etc. and as a base material for immobilizing a microorganism such as enzyme or yeast and an adsorbent, as well as an edible casing material.

⑬ 日本国特許庁 (JP)  
⑭ 公開特許公報 (A)

⑮ 特許出願公開  
昭56—131639

⑯ Int. Cl.<sup>3</sup>  
C 08 L 5/08  
89/00  
// A 61 F 1/00

識別記号  
庁内整理番号  
7342—4 J  
7342—4 J  
7033—4 C

⑰ 公開 昭和56年(1981)10月15日  
発明の数 6  
審査請求 未請求

(全 12 頁)

⑱ 蛋白質—キトサン組成物

東京都板橋区中台 3—27K—40  
7

⑲ 特 願 昭55—36711  
⑳ 出 願 昭55(1980)3月21日  
㉑ 発 明 者 小杉淳一  
東京都練馬区練馬 3—10—13第  
1呉羽荘22号  
㉒ 発 明 者 加藤侃明

㉓ 発 明 者 船橋征行  
いわき市高倉町鶴巻56の25  
㉔ 出 願 人 呉羽化学工業株式会社  
東京都中央区日本橋堀留町1丁  
目 8 番地  
㉕ 代 理 人 弁理士 宮田広豊 外 1 名

明 細 書

1. 発明の名称

蛋白質—キトサン組成物

2. 特許請求の範囲

(1) 必要に応じて架橋化処理してなる、繊維性蛋白質と可溶性蛋白質とキトサンよりなる組成物。

(2) 繊維性蛋白質がコラーゲン繊維であることを特徴とする特許請求の範囲第(1)項に記載の組成物。

(3) 可溶性蛋白質がゼラチン又はゼラチンと可溶性コラーゲンとの混合物であることを特徴とする特許請求の範囲第(1)項に記載の組成物。

(4) キトサンが脱N—アセチル化度50～100%のキトサンであることを特徴とする特許請求の範囲第(1)項に記載の組成物。

(5) 酸性領域中でキトサンと繊維性蛋白質及び可溶性蛋白質とを接触せしめ、次いで、該接触反

応物を脱酸処理し、更に必要に応じて架橋化処理することからなる繊維性蛋白質—可溶性蛋白質—キトサン組成物の製造法。

(6) 繊維性蛋白質がコラーゲン繊維であることを特徴とする特許請求の範囲第(1)項に記載の製造法。

(7) 可溶性蛋白質がゼラチン単独もしくは可溶性コラーゲンとの混合物であることを特徴とする特許請求の範囲第(1)項に記載の製造法。

(8) キトサンが脱N—アセチル化度50～100%のキトサンであることを特徴とする特許請求の範囲第(1)項に記載の製造法。

(9) 前記酸性領域のpHが1～6である特許請求の範囲第(1)項に記載の製造法。

(10) キトサン含有酸性媒体と繊維性蛋白質含有媒体及び可溶性蛋白質含有媒体とを混合分散することにより前記接触を行うことを特徴とする特許請求の範囲第(1)項に記載の製造法。

10 キトサン含有酸性媒体中に蛋白質成形体を浸漬することにより前記浸漬を行うことを特徴とする特許請求の範囲第4項に記載の製造法。

11 脱脂処理がキトサンと繊維性蛋白質及び可溶性蛋白質との凝縮反応物を含有する酸性媒体をアルカリで処理することである特許請求の範囲第4項に記載の製造法。

12 特許請求の範囲第11項に記載の組成物からなる食用材料。

13 特許請求の範囲第11項に記載の組成物からなる医療材料。

14 特許請求の範囲第11項に記載の組成物からなる微生物の固定化基材。

15 特許請求の範囲第11項に記載の組成物からなる吸着剤。

### 3. 発明の詳細な説明

本発明は蛋白質-キトサン組成物に係る。更に詳しくは、キトサンと水不溶性に不溶性の繊維性

蛋白質及び該溶液中に可溶性の蛋白質からなる耐熱性、耐酸溶性、機械的特性に秀れ、且つ生体に対して非吸収性である新規な組成物に係る。

代表的な蛋白質であるコラーゲンは、哺乳類、鳥類などの結合組織、骨、歯、リン骨、ケシ、真皮、筋線等に存在する硬タンパク質であり、可食ケーシング材、外科用縫合糸、血管移植片或いは人工皮膚等の形で広く用いられている。コラーゲンは上記の如き応用分野で用いられている他の材料に比べ優れているが、必ずしも満足すべきものと云い難い。

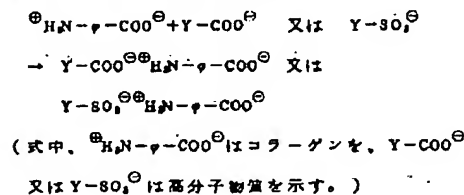
例えば、ハム、ソーセージ等のくん造処理を必要とする食品ケーシング材として、可食性であり且つ水中での弾伸度が大きいとの理由から、牛、豚、羊等の食用動物の筋、即ち天然のコラーゲン成形体が用いられている。しかしながら、該天然のコラーゲン成形体は、生産量に制限を有し、また煩雑な処理工程を経て製造されるためコストの

高いものである。しかも、該天然のコラーゲン成形体は、形状、品質が不揃い故にハム、ソーセージ等の製造において通常の高速肉詰め機に適用され難い。

上記欠点を解消するものとして、後述の如き方法等によつて得られるコラーゲン繊維のチューブ状物、即ち人工のコラーゲンケーシングが提案されている。しかしながら、該人工のコラーゲン繊維は成固性に劣る。また該人工のコラーゲンケーシングは、機械的強度の問題から膜厚が厚く、この為外観の見劣りや食感性を著しく損う欠点を有する。更に、該人工のコラーゲンケーシングよりなるハム、ソーセージ等は加熱調理時に硬化したり、また充填された肉とケーシング間で剥離する等の好ましくない現象を生起する。最近、該調理時での問題を解消するものとして、人工のコラーゲンケーシングを更に架橋化処理する方法も提案されている。しかしながら、該架橋化コラーゲン

ケーシングでは食感性の点で満足し難い。

一方、前述の外科用縫合糸、人工皮膚或いは止血用材等の外科的医療材料としてのコラーゲン材料は、強度的問題の他に生体安定性（非吸収性）の点で不満を残す。該コラーゲン材料の生体安定性を発現せしめる方法は種々検討されている。例えば、コラーゲンを架橋化する方法がある。しかしながら、該方法によつて得られる成形材は引張り強度及び伸度等の機械的性質を著しく低下する。また、下記に如き反応式で表わされるコラーゲンとカルボキシル基或いはスルフェート基を有する高分子物質とのポリイオンコンプレックスの形成により解決する方法も試みられている。

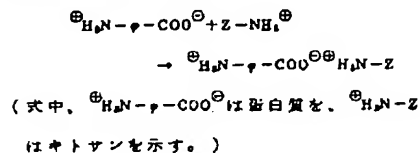


得られるポリイオンコンプレックスは生体安定性にすぐれ且つ抗血栓性を有する。しかしながら、該ポリイオンコンプレックスは水性懸液、例えば塩化ナトリウム希液の如き無機塩溶液に溶解し、また機械的特性に劣る。従つて、該ポリイオンコンプレックスにさらに架橋化処理等の安定化処理を加す必要がある。

本発明者等は、上記実情に鑑み、広範囲に及ぶ用途に適する新しい複合材の開発について鋭意研究していく過程において、蛋白質等の緩衝剤であるキトサンと蛋白質とを接触せしめてなる線維性蛋白質-可溶性蛋白質-キトサンの三成分よりなる組成物が極めて好目的であることを知見し、本発明に到達したものである。

即ち、上記知見に基づく本発明はキトサン/〔線維性蛋白質+可溶性蛋白質〕構成比0.01/99.99~99/1(重量比)で、且つ、線維性蛋白質/可溶性蛋白質構成比99/1~60/40

については未だ明らかでないが、下記の如き反応によりキトサンが蛋白質と密着なポリイオンコンプレックスを形成する、即ち、可溶性蛋白質と線維性蛋白質とをキトサンが



強固に結合させる、ことに密着するものと推察される。

本発明の複合材は種々の用途に適用可能である。該用途の1つとして可食ケーシング材を挙げることができる。また、橋山等(A.N.I.471)が報告している様にキトサンは下記a~dの如き生体活性を有するので、

- 血漿コレステロールの正常化
- 血糖抑制
- 成長阻害物質の除去

特開昭56-131639(3)

(重量比)である蛋白質-キトサン組成物を提供するものである。

また、本発明はキトサンと線維性蛋白質及び可溶性蛋白質とを酸性領域中で接触せしめ、次いで、該接触反応物を脱酸処理し、更に、必要に応じて架橋化処理することにより得られる上記蛋白質-キトサン組成物よりなる複合材を提供する。

従来、コラーゲン線維-可溶性コラーゲン成いはコラーゲン線維-セラチン等の蛋白質系複合材が報告されている。しかしながら、該蛋白質系の複合材は可溶性成分の結合が弱い為、熱水中での強度低下が著しい。これに対し、本発明の複合材は塩水溶液中に溶解せず、また、機械的強度、特に熱水中での強度低下がなく、しかも、生体に対する非吸収性、血液凝固性、耐毒性、成膜性及び肉等の充填物との密着性に優れる。

本発明の複合材が上述の如き優れた機械的特性、非吸収性及び血液凝固作用を有する等々の理由に

#### 4. 大腸ガンの防止

本発明の複合材は、球状、線維状物として食品中に添加使用され得、食用材料として上記諸症状に対し予防的または治療的效果を挙げることができ

る。更に、本発明の複合材は、キトサンの生体に対する非吸収性と血液凝固作用を併有する故、フィルム状、線維状成いはその他三次元構造の形態で医療及び外科的応用に供せられ得る。本発明の架橋又は未架橋の蛋白質-キトサン複合材は、それ自体血栓性であるが、ヘパリン処理することにより、抗血栓材料として用いられ得、人工血管、人工皮膚、人工腎臓等の医療材料として利用され得る。

又、本発明の複合材は、蛋白質緩衝剤に優れる故、酵素、微生物等の微生物固定化基材成いは緩衝剤としても利用できる。

以下、本発明を詳述する。

本発明に係るキトサンは、溶解性及び作業性の点から脱-N-アセチル化度50～100%、好ましくは70～100%、粘度20～1000cpを有するものである。該キトサンは、市販のもでも良く、又カニ、エビ等の節足動物の甲殻から常法によつて分離・精製して得られるキチンを高濃度のアルカリ水溶液中で加熱処理することによつても入手し得る。なお、上記粘度は0.5wt%溶液（溶液：1wt%酢酸水溶液）中20℃で測定されたものである。

本発明に係る蛋白質は、水系溶液中に不溶な繊維性蛋白質及び該水系溶液中に可溶な蛋白質の2種類（以下蛋白質成分と総称する）である。該蛋白質成分は各種動物の生体から分離・精製或いは分離・精製後の蛋白質を化学処理することにより入手し得る。

なお、本発明で云う水系溶液とは酸、アルカリの水溶液を意味する。酸としては塩酸等の無機酸

或いは酢酸、アジピン酸、プロピオン酸等の有機酸の単独もしくは2種以上の混合物が例示できる。また、アルカリは水酸化ナトリウム、水酸化カリウム等の通常のアルカリである。

繊維性蛋白質の代表例としてはコラーゲン繊維を挙げることができる。

コラーゲン繊維は、脊椎動物及び無脊椎動物の結合組織中の主要な蛋白質である繊維成分から化学的および機械的処理により非コラーゲン性の組織成分を分離したものである。該コラーゲンは、例えば、以下の方法で製造され得る。即ち、脱毛処理した牛皮、牛アキレス腱を肉挽機等で細断後酸性或いはアルカリ性の媒体中で膨潤させ、次いで攪拌機等で解繊し、水性分散液とし、更に必要に応じて過分離する。

なお、上記製造における細断工程後、細断片を前処理することは得られる複合材の強度の向上及び均質化にとって好ましい。該前処理としてはコ

ラーゲンのリジン残基中のアミノ基をホルムアルデヒド、グルタルアルデヒド、ジアルデヒドメタート、グリオキサール、塩酸或いはエビハロヒドリン等の試薬による架橋化、コハク酸無水物によるサクレニル化、無水有機酸によるアシル化或いはメチル化剤を用いてコラーゲン中のアスパラギン酸、グルタミン酸等の側鎖にあるカルボン酸のエステル化等を例示できる。

また、該コラーゲン繊維としては、天然又は人工のコラーゲンケーシングの屑等のケーシングとして使用できない廃物を挙げることができる。

その他に、本発明に係る繊維性蛋白質としては、魚の糸中に存するフィブリン、毛の成分であるケラチン、血液中のフィブリノーゲン等を例示できる。本発明で用いる繊維性蛋白質は、繊維径1～3μ、繊維長0.1～15m、分子量5000～1,000,000好ましくは20,000～500,000であるが、必ずしもこれに限定されるものでない。

一方、水系溶液中に可溶な蛋白質としては、工業的規模で食品工業界で用いられているゼラチン或いは前記繊維性蛋白質を蛋白質分解酵素、酸或いはアルカリで処理し、全部を可溶性としたものが例示できる。又、上記の処理に際し、一部を可溶化することにより、繊維性蛋白質及び可溶性蛋白質成分の混合物として使用できる。

本発明の複合材は、前記したキトサンと蛋白質成分を酸性領域中で接触せしめ、次いで、該接触反応物を脱酸処理し、更に、必要に応じて架橋化処理することにより得ることができる。

キトサンと蛋白質成分の構成比は目的とする複合材によりキトサン/蛋白質：0.01/99.99～99/1（重量比）の範囲で適宜選ぶことができる。蛋白質成分における繊維性蛋白質と可溶性蛋白質の割合は可溶性蛋白質/繊維性蛋白質：0.1/99～40/60（重量比）である。該蛋白質成分の構成比が40/60以上では複合材の

含水量が多くなり、該複合材の形状保持が困難となり、また引張り強度等の低下を来す。可溶性蛋白質としてゼラチンは最も好ましいものの1つであるが、この場合、繊維性蛋白質1重量部に対して0.01~0.4重量部好ましくは0.05~0.3重量部である。

可溶性蛋白質成分は複合材の柔軟性、熱変形温度の低下、機械的強度の向上、更には、後述の如きケーシング材における食感性の向上等に寄与する。

なお、前述の繊維性蛋白質の一部可溶化物は蛋白質成分として用いられる。本発明で云う酸性領域とはキトサン-蛋白質成分の溶解系内がpH1~6好ましくは3~6であることを意味する。

前記脱酸処理とは、キトサン-蛋白質成分の接触反応物の等電点以上にpHを調整することである。従つて、脱酸処理は、接触反応系内を水酸化ナトリウム、水酸化カリウム等のアルカリで処

理し、pH7以上とする方法、高アルカリ性の塩水溶液で処理する方法、接触反応物中に過剰に存在する酸を蒸発除去する方法或いは電解法により電解脱酸する方法を提示できる。

ゼラチンは不溶性コラーゲンを熱水等により変質せしめ水溶性に可溶性としたものであり、その処理法によつて等電点、ゼリー強度、成分含有量等が異なる。それ故、前述のゼラチン使用の蛋白質系複合材を製造する際は、該ゼラチンの種類によりその製造条件を定める必要がある。例えば、後述の電解法による複合材の製造に際し、酸処理により得られるゼラチンを用いる場合は調整液のpHを7以上とし、陰極側に複合成形体を生成せしめる工夫を必要とする。又、アルカリ処理して得られるゼラチンの場合は調整液のpHを7以下とし陽極側に成形体を生成せしめなければならない。

これに対し、本発明では組成物の一構成成分で

あるキトサンの動きにより、上記の如き製造面での束縛なく複合材を製造し得る。

また、本発明の製法によれば、従来成形性において不調を来した蛋白質成分をキトサンと複合させることでより成形性（成膜性など）を向上することができ、尚かつ製造時の歩止りおよび製品の安定性、面一性等の問題を解決し得る。又、コラーゲンを前処理として架橋化処理した膜の遊離のアルデヒド基を反応することになるので、安全性の問題からも好ましいことである。

以下、本発明の複合材の製造例を述べる。

1つの接触態様として、キトサン含有酸性媒体と蛋白質成分含有媒体とを混合分散する方法を例示できる。この場合、キトサン含有酸性媒体中のキトサン濃度は5wt%好ましくは1wt%以下（形態：酢酸、塩酸等の希薄水溶液）であり、該キトサン含有酸性媒体のpHは1~6好ましくは3~6である。なお、キトサンは、均一に溶解してい

る必要はなく、繊維状で分散していても良い。蛋白質成分含有媒体は、蛋白質成分を塩酸等の酸性水溶液に分散し、pHを3~6好ましくは3~6に調整したものである。蛋白質成分含有媒体は、必ずしも酸性である必要はなく、中性又はアルカリ性であつてもよい。しかしながら、この場合、キトサン含有酸性媒体と混合分散した際、混合分散系は酸性領域にあることが必要である。なお、後述の電解法においては、電気伝導度、所製電力の関係から該蛋白質成分含有媒体は酸性領域で用いる。

該蛋白質成分含有媒体中の蛋白質成分の含有量は任意で良いが、粘度等の関係から通常5wt%以下、好ましくは1wt%以下である。

本発明において、フィルム状の複合材は、上記所定の割合の混合液を脱泡処理後、該混合液をガラス板上に押し込み、更に熱風乾燥機等で脱泡処理する方法で製造し得る。本発明に係るフィルム

状の複合材は繊維性蛋白質を一構成成分とするにもかかわらず、強度面で縦横の方向収縮性のないことを特徴とする。該特徴はキトサンが存在することによりはじめて発現し得るものであり、この事実には全く驚くべきことと云える。また、球状の複合材は、上記混合液をトルエン、キシレン等の親水性の有機溶媒中に滴下・分散させ、次いでアルコール-水系形態で脱離処理する方法で製造できる。更に、上記混合液をホール成いはスリット状のノズルから高圧度の塩又は水酸化アンモニウム等のアルカリ水溶液中に押し出すことで繊維状、フィルム状成いは中空状の形勢として成形することもできる。なお、可溶性蛋白質及びキトサンを含有する繊維性蛋白質分散水溶液を少なくとも1個の陰極及び少なくとも1個の陽極を備えた電極槽に導入し、上記両電極間に直流電圧を加え、所定電極面上に架設せしめてなる。

本発明のチューブ状複合材は、極めて薄い膜

であり、強度的にも優れる故に食感性の良い可食ケーシング材として好適である。

本発明の複合材を可食ケーシングとして用いる場合、食感性、くち度及び調理時の強度、熱安定性、ヒートシール性の観点からキトサン/蛋白質成分の構成比が0.1/99.99～50/40の範囲が好ましい。蛋白質成分の構成比は可溶性蛋白質/繊維性蛋白質：5/95～30/70（重量比）である。又、本発明の複合材を可食性食品添加剤として用いる場合はキトサン/蛋白質成分の構成比：1/99～99/1時にキトサン成分の多い方が好ましい。なお、電着法による成形に用いるセラチンは所要電力及び品質の点で、炭分含有量0.5wt%以下好ましくは0.2wt%以下が用いられる。

別の膜形態として、キトサン含有繊維媒体中に予めシート、フィルム、チューブ、繊維状等形成した蛋白質成形体を浸漬し、次いで脱離処理

する方法も例示できる。この場合、得られる複合材は界面部がキトサン成分故機械的性質の向上、耐熱性、耐水性等の極めてユニークな性質を示すものである。

上記方法等によつて得られる本発明の複合材は、更に架橋化処理することにより、上記特性の他に高強度・高弾性、耐水性の向上が発現される。

架橋化は例えば以下の方法によつて行うことができる。

まず本発明の複合材を、pH 7.4のリン酸緩衝液に架橋剤を溶解した水溶液中に浸漬する。該浸漬は10～50℃の温度下0.1～1時間行う。反応終了後、洗浄工程を経れば水に不溶な架橋化処理された複合体となる。

該架橋化処理により、キトサンの架橋化のみならず、キトサン-蛋白質成分の架橋化も生じ得るので、より界面結合力が上昇する。架橋は、例えば、キトサンおよびコラーゲンのアミノ基および

水酸基の間又は異種官能基の間で生起する。

架橋剤としては、ホルムアルデヒド、グルタルアルデヒド、ジナルデヒドスターチ、グリオキサール、塩酸成いはエピヘロトドン及びエチレングリコール、グリセリン、ソルビトール等の多価アルコール、糖類等があげられる。

本発明によれば、キトサン自体の蛋白質との結合力（凝集力）を生かすことにより、大豆蛋白、カゼイン等の可溶性蛋白質の利用も可能であり、種々の用途で応用可能である。

以上、本発明は自然界に多量に存在するが、高結晶性且つ化学的に安定故、その利用分野が限定されていたキトサンと蛋白質成分とを組合せることで両者の欠点をおさなつて余りある特性を有する新規な複合材を提供するもので、その産業上の貢献は大と云える。

以下、実施例をもつて本発明を説明する。

#### 実施例1

北米産ステアハイド塩皮 100 kg を 15 時間水浸、水洗後、蒸取機によりにべ、脂肪をけづり取った。次いで酸除去された皮を石灰浸漬処理した。石灰浸漬処理は、消石灰 2%,  $\text{Na}_2\text{S}$  0.5%,  $(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{NH}$  0.5% を含む液 450 kg に上記の皮 90 kg を入れ、25℃にて 24 時間ゆるやかに攪拌する方法によった。該処理後の皮は脱毛ロールにかけ脱毛するとともに石灰浸漬処理によつて生じた分解物を取り除いた。次いで該処理皮をスプリンティング機により分割し、ミイトスライサーにより巾 5 cm に切り、更に肉挽機により長さ 5 cm の細片にした。この細片 80 kg を水 800 kg 中に分散させ、更に酢酸 3 kg を入れ、ゆるやかに 12 時間攪拌後この分散液から該皮細片を分離し、通気脱水機により脱水し、イオン交換水で洗浄した。洗浄は洗浄水の電気伝導度が  $20 \mu\text{S}/\text{cm}$  以下になつた時点で終了せしめた。この時点における皮中の水分は 0.1% 以下であつた。

前記重質コラーゲン分散液 15 kg にイオン交換水 50 kg を加え、急速に攪拌し、次いでこの分散液にキトサン水溶液 374 g、ゼラチン水溶液 374 g を加え、1 時間攪拌混合し、コラーゲン/ゼラチン/キトサンの重量比が 100/5/5 である混合液を得た。

次に該混合液から電解装置を用いて製膜した。該電解装置は、内径 100 mm、高さ 700 mm の PVC 製の穴明き円筒で支持された白金網を陰極とし、その内部へ外径 12.5 mm、長さ 700 mm のステンレス製管の陰極を有し、その管間に内径 56 mm、厚み 1 mm PVC 製隔膜ホルダーにプロピレン織物製伊布をはつて管間を仕切つたものであつた。

陰極管内は pH 3.0 の塩酸水溶液を槽下部より投入し、槽上部よりオーバーフローし、陰極液ホルダーへ落ち、再び槽下からポンプにより循環せしめておいた。該原料物は陰極槽下部より導入し、

特開昭 56-131639(7)

この皮細片 40 kg を 0.015% 濃度のグルタールアルブヒドを含み、塩酸により pH 3.0 に調整した水溶液 400 kg に分散させ、20℃で 12 時間ゆるやかに攪拌して無機化処理した。

次いで該処理皮を金網で分離し、パルプリアイナーを用いて冷水 113 kg 中で纖維束を切解し、コラーゲン纖維の分散液とし、更に塩酸を加えて pH 3.0 に調整した。この分散液は太さ 1~3  $\mu$ 、長さ 1~10 mm のコラーゲン纖維と更に細分化したコラーゲンの混合物となり、25% コラーゲンを含む液 125 kg となつた。

一方、キトサン 1 kg を pH 3 の塩酸水溶液 10 kg に溶解後、pH を 3.0 に調整し、総重量 20 kg のキトサン溶液を得た。

他方、酸処理ゼラチン（宮城化学 F-795）1 kg を pH 3 の塩酸水溶液 10 kg に溶解後、pH を 3.0 に調整し、総重量 20 kg のゼラチン溶液を得た。

上部よりオーバーフローせしめ、該混合液貯蔵槽へ戻る様にしておいた。陰極槽のオーバーフロー部は陰極槽のオーバーフロー面より 50 mm 低くし、隔膜から塩酸水溶液が陰極槽へ流入しない様にしておいた。温度は 10℃ 以下に保つた。

該電解装置に前記キトサン-コラーゲン-ゼラチン混合液を入れ、循環させ、電極間へ直流電圧 300 V をかけた。正に帯電しているコラーゲン-キトサン-ゼラチンは電気泳動により陰極へ移動し、水の電解によつて生じた  $\text{OH}^-$  により中和され、等電点の pH に近づき、水和水を放出し、凝集し、陰極面上に膜を<sup>形成した</sup>膜を引き上げ速度は 10 mm/分とした。

引き上げられた膜は 7% グリセリン水溶液へ浸した後空気で水柱 500 mm の圧力を保ちながら 75℃ の熱浴で 2 分間乾燥し、不発明の成形材（試料 A）を得た。

尚、比較のため、キトサンを添加しないゼラチン

ーコラーゲン分散液を用いて同様な方法で比較ゼラチン-コラーゲン膜(比較試料A)を得た。

該成形物をJIS P-8113, JIS P-8116に準じて膜状部で引張り強度及び引裂強度を測定した結果を第1表に示した。

これより明らかな様に引張り強度があがつている。又、これらの成形体を40℃の温水に24時間浸漬した後、上記方法にのっとり強度を調べた結果を第2表に示した。この結果、本発明の成形体は強度的にも秀れていることが明らかとなった。

第 1 表

試 料	膜厚(μ)	引張り強度(Kg/cm)	引裂強度(g-cm/cm)	伸度(%)
試 料 A	10	480	36	35
比較試料A	10	340	27	27

第 2 表

試 料	引張り強度(Kg/cm)	引裂強度(g-cm/cm)	伸度(%)
試 料 A	370	60	110
比較試料A	140	45	60

ン混合液の割合をコラーゲン100重量部に対して、ゼラチン20部、キトサン10部に膜引き上げ速度を15mm/分とした以外は同一条件下で成膜し、連続的なフィルム状物である本発明の成形材(試料C)を得た。

尚、比較のために同様の膜引き上げ速度でコラーゲン-ゼラチン混合液(100重量部-20重量部)についても行なつたが、電極上に成膜せず、連続的に引き上げる事は出来なかつた。

本発明の成形材の機械的特性は膜厚8μ、引張り強度440Kg/cm<sup>2</sup>、引裂強度30g・cm/cm、伸度34%であつた。

#### 実施例4

実施例1で得た2.5%コラーゲン分散液10Kgと5%ゼラチン水溶液1Kg、5%キトサン水溶液1.5Kgを混合後これを真空脱泡処理した。これを0.1N水酸化アンモニウム水溶液を入れた膜浴槽中に巾10cm、間隔0.5mmのスリットより押

#### 実施例2

実施例1におけるキトサン-コラーゲン-ゼラチン混合液の割合をコラーゲン100重量部に対してキトサン20部、ゼラチン5部にし、膜引き上げ速度を25mm/分とした以外は、同一条件下で成膜し、連続的なフィルム状物である本発明の成形材(試料B)を得た。

尚、比較のために同様の膜引き上げ速度でコラーゲン-ゼラチン混合液(100重量部-5重量部)についても行なつたが、連続的に引き上げる事は出来なかつた。

本発明の成形材の機械的特性は、膜厚8μ、引張り強度480Kg/cm<sup>2</sup>、引裂強度33g・cm/cm、伸度33%であつた。

#### 実施例3

実施例1において、ゼラチンを酸処理ゼラチンからアルカリ処理ゼラチン(宮城化学製P-800)に換え、コラーゲン-ゼラチン-キトサ

し出し、水洗後実施例1と同様の後処理を行い、フィルム状の本発明の成形材(試料D)を得た。

該フィルム状物は実施例1と同様に測定した結果、膜厚30μ、引張り強度495Kg/cm<sup>2</sup>、引裂強度73g・cm/cm、伸度31%であつた。

尚、キトサンを添加せずに同一条件下で成形したフィルム(比較試料B)は、膜厚30μ、引張り強度320Kg/cm<sup>2</sup>、引裂強度65g・cm/cm、伸度28%であつた。

以上の結果から本発明の複合材は強度的に秀れていることが明らかになつた。

#### 実施例5

##### 機械充満適性テスト

実施例2で得たチューブ状の試料Bと実施例1で得た比較試料Aをソーセージケーシングとして使つた時の実用試験を行つた。

肉エマルジョンはフランクフルトもしくはウィナータイプの混合物でその組成は下記の割合と

した。

豚の塩漬肉	1300g
豚の背脂肪	750g
卵 白	90g
水 水	750g
で ん 粉	120g
グルタミン酸ソーダ	9g
オールスパイス	12g
砂 糖	9g
リン 酸 塩	6g
コ シ ロ ー	6g

エマルジョンの製造は通常用いられる食肉用の装置により次の工程で製造した。

#### 1) 豚肉の塩漬

豚肉を3cm角に切り、食塩を添加し、良く混合後15℃で12時間塩漬する。

#### 2) 豚脂身は肉挽機(2φの穴)で3回挽き、4℃にて2時間冷却した。

秀れたものであつた。

#### 第3表 元填テスト

ワーカー760 270rpm

試料 No	キトサン 添加有無	テスト数 (ストランド)	ノズル パツケン	元填量 (g/分)	長さ(cm) 元填後	収縮量
1	有 (20部)	3	9.8×1.5mm	18	9.5	0
2		9	9.8×2.5mm	20	9.8	0
3		1	9.8×3.5mm	14.5	7.3	0
4		1	#	17.5	8.4	0
5		1	#	20	9.9	0
6		1	#	23.5	11.8	0
7	無	1	9.8×1.5mm	17.2	9.5	0
8		2	9.8×2.5mm	19.4	10.5	1/1000
9		1	9.8×3.5mm	15.4	7.4	1/500

注: ノズルパツケンを増すとシヤーリングされたケーシングの引出し量が増加し、元填長さが短くなり、元填圧が増す。

#### 実施例6

特開昭56-131639(9)

3) 塩漬豚肉も同様に肉挽機にて3回挽き、4℃に冷却する。

4) 挽肉1300gをサイレントカッターに入れ、水400gを加え、低速で混合しながら卵白90gを加えた。

5) 次に肉挽機で挽き、4℃に冷却してある豚脂身750gに水350gを入れ、混合しながらでん粉120gを加えた。

6) 最後に調味料としてグルタミン酸ソーダ9g, コシロー6g, オールスパイス12g, 砂糖9g及びリン酸塩6gを加え、高速で混合した。

この様にして得られた混合物を半自動スタッフアーワーカー760により二種類のケーシングに詰めたときの元填テストの結果を第3表に示した。

第3表から明らかな様にキトサン添加物は過剰な元填テストにも耐えうる。尚、本発明のケーシングは、ソーセージの結び目は細く、外観的にも

実施例4で得られたソーセージ試料No2, No3

をくん煙処理した。

該処理は特に8個の輪で鎖状につらし、くん煙室に入れ、初め55~60℃にコントロールし、30分間乾燥後、75℃に上昇させ、木材チップから発生させた煙を導入し、更にスチームを導入してくん煙室の湿度を一定にし、30分間処理した。

該処理が終了後スチームを導入し、くん煙室内の湿度を75~80℃に30分間乾燥後、くん煙室より取り出し、冷水を噴霧し、急冷却した。

該処理したソーセージを家庭の主婦が調理することを想定し、調理時の破裂性のテストを行った。

#### ・フライテスト

温度調節器付のフライ鍋に油(商品名 日清テンプラ油)を入れて160℃に保ち、各サンプル10個のソーセージを用意し、油温の低下を防止する為一度に2個のソーセージを入れ、ケーシング

グが30秒間に破裂する量を測定した。

#### ・フライパンテスト

フライパンの表面の温度を均一に保つ為オイルバスへフライパンの底部を浸し、オイル面下10mmに位置する様に固定し、フライパンの表面が175～180℃になる様にオイルバスの温度をコントロールした。フライパンに前述タンブラ油を少量入れて全面に塗付し、各サンプル10個のソーセージを用意し、5個づつに分けて入れ、ゆつくり動かし、2分間にケーシングが破裂する量を測定した。これを同一サンプルについて2回繰返した。

#### ・ボイルテスト

湯鍋(深さ50mm)を用意し、沸騰状態に保ち、各サンプルについて10個のソーセージを用意し、5個づつに分けて湯鍋に入れ、5分間ボイルした時の破裂した量を測定した。これを同一サンプルについて2回繰返した。

実施例1において遠心脱水機により脱水した皮細片50gを100mlの無水酢酸中に浸漬し、5℃で8時間浸漬し、アセチル化反応させた。

該処理皮をイオン交換水の流水下で洗浄した。尚、原料である牛皮の等電点がPH6.5であつたが、該処理する事によりPH2.5に変化した。該処理皮は実施例1と同様にコラーゲン酸塩の分散液とし、塩酸によりPH3.0に調節し、影響させ、2.5%のコラーゲン分散液をつくつた。

これに実施例1と同様にキトサン、セラチン水溶液を加えコラーゲン/セラチン/キトサンの重量比が100/10/10になる様に調節し、実施例1の電着装置を用いて成膜後処理し、本発明の成形材(試料E)を得た。

それを実施例1にもとづき機械的特性を調べたところ、膜厚9μ、引張り強度480kg/cm、引裂強度34g・cm/cm、伸度33%であつた。

#### 実施例3

特開昭56-131639(10)

これらの結果を第4表に示した。

第4表から明らかな様に実用的な試験テストにおいても極めて優れていた。

第4表

試料 No	キトサン添加 有 無	破裂した個数(10個当たり)		
		フライテスト	フライパンテスト	ボイルテスト
2	有(20部)	1	0	3
8	無	3	2	10

尚、キトサン添加されたケーシングを用いたソーセージはまるやかな旨味と甘さが口中にひろがり、食感においては類のないものであつた。これはコラーゲン酸塩のみのケーシングを用いたソーセージには発現しない現象であつた。

30名のパネルによる官能テストによつて、天然革腸を用いたソーセージと比較して、なめらかな食感で人工的な感じがほとんどないとの総合的評価がなされた。

#### 実施例7

実施例1における架橋処理前の皮細片1gをとり、0.2重量%のプロナーゼ(科研化学製)を含むPH9のAtkins-Panthe緩衝液20mlに24時間浸漬、ゆるやかに撹拌しつつ反応せしめた。反応終了後、塊状物を、遠心分離、水洗等の操作を行ない、精製した。これを1N-塩酸水溶液でPH3.5に調節し、総量100gの均一溶液を得た。尚、この溶液の一部を取り、凍結乾燥し、可溶コラーゲンの濃度を調べたところ、0.95%であつた。

実施例1における2.5%架橋処理コラーゲン分散液、12.5gをとり、イオン交換水50gを加え、急速に撹拌し、次いで、上記可溶コラーゲン溶液8.95gを加え、30分間撹拌混合した。

更に実施例1におけるキトサン水溶液74g、セラチン水溶液874gを加え、撹拌混合した。

この混合溶液はコラーゲン酸塩：可溶コラーゲン：セラチン：キトサンの比が90：10：10

: 20 の構成比となつてゐる。

これを実施例 1 の電着装置を用いて成膜し、本発明の成形体 (試料 F) を得た。それを実施例 1 にもとづき機械特性を調べたところ膜厚 9  $\mu$ , 引張り強度 500  $\text{kg}/\text{cm}^2$ , 引裂強度 35  $\text{g} \cdot \text{cm}/\text{cm}^2$ , 伸度 35% であつた。

#### 実施例 9

キトサン 20  $\text{g}$  を 5% 酢酸水溶液 1  $\text{L}$  に溶解して均一溶液とし、これを A 液とする。

実施例 1 における架橋処理した 2.5% コラーゲン分散液 50  $\text{g}$  をとり、更に、実施例 1 のゼラチン水溶液 7.5  $\text{g}$  を加え、1N-塩酸水溶液で pH 3.5 に調節し、粘度 1  $\text{kg}$  とし、ホモナイザーで 10  $^\circ\text{C}$  以下に保ちながら更に細分化し、B 液を得た。

該 B 液に A 液を加え、ホモナイザーで均一溶液とした。

別 K、一方にはデカリン 2  $\text{L}$  とポリオキシエテ

度を測定した結果、血小板、血球とも明らかに付着が認められた。

#### 実施例 10

実施例 2 のコラーゲン-ゼラチン-キトサン混合溶液を 200% $\times$ 200% のプレートに厚さ 5% で流し込み一時間静置した後、0.1N-水酸化アンモニウム水溶液に浸漬し、酸を中和後イオン交換水で洗浄し、塩類を除去した。これを 0.5% のホルムアルデヒドを含む 0.1 モル第 2 リン酸ナトリウム水溶液に 30  $^\circ\text{C}$  で 1 時間浸漬処理し、次いで水洗した。

該処理成形体を凍結乾燥し、スポンジ状の成形体 (試料 H) を得た。該成形体は生理食塩水に対する吸収能は 21  $\text{g}/\text{g}$  成形体であり、尚かつ、血管に対する凝集性が高いので生理用品及び緊急用止血帯として使用可能であることが判つた。

#### 実施例 11

0.1 モル第 2 リン酸ナトリウム水溶液 500  $\text{cc}$

特開昭 56-131639(II)

レンソルビート (商品名 ツイン # 80) 1  $\text{g}$  を入れた攪拌機付き 3  $\text{L}$  のフラスコを準備した。

フラスコに該 A-B 混合液 100  $\text{cc}$  を添加し、1000 rpm で攪拌分散させる。1 時間分散後、それらの分散液を 10  $\text{L}$  のエタノール中に再分散させると不溶物が得られた。即ち、エタノール洗浄を繰返し、有機溶媒を除いた後 2% 水酸化アンモニウム水溶液 1  $\text{L}$  に再分散させ、中和後伊過水洗すると球状の本発明の成形体 (試料 G) を得た。尚、試料 G の大きさは直径 0.1~1.0  $\mu$  であつた。

試料 G を凍結乾燥した後 1  $\text{g}$  をとり、生理食塩水に入れた後伊過し、余分な食塩水を除去した。これを内径 8  $\text{mm}$  のガラス製のカラムに充填し、続いてヘパリン 250 単位添加したウサギ血液 50  $\text{ml}$  を 20  $\text{ml}/\text{min}$  の速度で 37  $^\circ\text{C}$  15 分間循環した。循環を停止したのちすみやかに血液を除去し、生理食塩水で洗浄した後その球状成形体を取り出し、該成形体表面の血小板及び血球の付着程

にグルコースイソメラーゼ (長瀬製薬製 2000 U/ $\text{g}$ ) 1  $\text{g}$  を溶解し、実施例 9 におけるコラーゲン-ゼラチン-キトサンの球状成形体 (試料 G) を 20  $\text{g}$  加え、5  $^\circ\text{C}$  で 2 時間攪拌後、2.5% グルタルアルデヒド水溶液 2  $\text{cc}$  を更に加え、5 時間処理した。該処理後、pH 7.0 のリン酸緩衝液で洗浄し、該処理成形体を 2  $\text{g}$  のグルコースを含む pH 7.0 リン酸緩衝液 500  $\text{cc}$  に加え、70  $^\circ\text{C}$  で 50 分間処理した後のグルコース、フラクトースの量を測定したところ、それぞれ 800  $\text{mg}$ , 1400  $\text{mg}$  であり、固定化された酵素は 70% であつた。

これらの結果から固定化酵素及び固体の担体として使用可能であることが判る。

#### 実施例 12

1% 酢酸水溶液 1  $\text{L}$  に 5  $\text{g}$  のキトサンを添加して均一溶液をつくつた。(この時の溶液粘度は 50  $\text{cgs}$  であつた。) この溶液に比較試料 A のコラーゲン-ゼラチンからなる成形体を 20  $^\circ\text{C}$

1分間浸漬した後、余分な水溶液を除去し、乾燥状態のままで0.1N-アンモニア水に浸漬した後水洗して酢酸アンモニウム、アンモニアを除去し、本発明の成形材（試料I）を得た。

この複合材の機械的強度は引張り強度400kg/cm<sup>2</sup>、引裂強度30g・cm/cm、伸度30%であつた。尚、含浸量はコラーゲン繊維100重量部に対してキトサン2重量部であつた。